

PALINOLOGÍA FORENSE: APORTES A LA INVESTIGACIÓN CRIMINAL EN ARGENTINA.

a Palinología Forense es una disciplina dentro de la Botánica dedicada al estudio de los granos de polen y las esporas. Esta disciplina se puede aplicar en diferentes campos, como por ejemplo la industria del petróleo e hidrocarburos, ecología, taxonomía y sistemática de las plantas, área legal y forense, entre otros. En el área forense y legal, la Palinología sirve para aportar información útil sobre las circunstancias en las que ocurrió un crimen o un homicidio. Los objetivos de esta contribución son: dar a conocer las actividades desarrolladas en base a la Palinología Forense realizadas en la Sección Ciencias Naturales de la División Química Legal de La Plata, poner al alcance de los científicos naturalistas algunas metodologías periciales adecuadas para fomentar su participación con el fin de sumar aportes a la hora de esclarecer un crimen desde la Palinología. Se plantea un protocolo de investigación forense que involucra algunas consideraciones a tomar en cuenta en la escena del crimen y análisis palinológicos a desarrollar y hacer el cotejo pericial de las muestras obtenidas.

INTRODUCCIÓN

La Palinología Forense es una disciplina dentro de la Botánica dedicada al estudio de los granos de polen y las esporas. Esta disciplina se puede aplicar en diferentes campos, en la industria del petróleo e hidrocarburos, ecología, taxonomía y sistemática de las plantas, área legal y forense, entre otros. También se incluyen en estos estudios otros organismos microscópicos (palinomorfos) tales como los dinoflagelados, acritarcos o quitinozoarios. Los granos de polen y esporas son mi-EF6SCÓPICOS, siendo su tamaño entre 5-200 micrones, pero en general oscilan entre 20-70 micrones. Aunque a veces pueden ser visibles como una masa acumulada, no presentan una conexión obvia con la escena del crimen en la investigación.

Los palinomorfos suelen ser abundantes en el medio ambiente, ya que son imprescindibles para la función reproductiva de las plantas. Esta abundancia significa que tienen mucho potencial como pruebas de rastro en las diferentes escenas del crimen. El polen y las esporas tienen diferentes funciones sexuales en las plantas. Por su parte, el grano de polen es el gameto masculino, que se dispersa de la antera (parte masculina) de las plantas, para alcanzar el pistilo (parte femenina), donde se produce la fecundación.

La Palinología se centra fundamentalmente en el análisis de la morfología externa de la exina (pared externa en los granos de polen), que presenta patrones estructurales diferentes. El estudio y análisis microscópico de su simetría, aperturas en las paredes, contorno, forma y tamaño, tiene un valor taxonómico y permite distinguir taxones diferentes a distintos niveles (familia, géneros, especies). Es en el estudio paleontológico donde alcanza su máxima versatilidad, porque el polen tiene gran resistencia a la putrefacción debido a las características químicas de la exina. Esta área de investigación se denomina "Paleopalinología". No obstante, en la mayoría de los casos los palinólogos forenses raramente encuentran otros tipos de palinomorfos ácido-resistentes porque muchos palinomorfos son marinos y están restringidos únicamente a depósitos fósiles. Idealmente, las muestras de palinologia forence deberían ser tomadas por un palinólogo competente, conocedor del aspecto forense. Tales especialistas sabrán cómo recolectar muestras. no contaminadas ni contaminarlas y qué precauciones se deben tomar en cuenta para que las mismas permanezcan libres de contaminación durante su tiempo de almmacenamiento previo a efectuar el estudio, durante la fase de tratamiento y extracción en el laboratorio y durante el proceso de análisis.

Una colección y transporte de muestras no adecuado y/o la contaminación accidental de muestras forenses producirá resultados inexactos. Esto no solamente puede conducir a información errónea sino que puede ser usado para desechar datos resultantes como evidencia no válida ante un tribunal. Si una contaminación, ya sea natural o intencional puede ser probada como posible, entonces la duda puede anular los resultados aportados por el polen y las interpretaciones resultantes. Es por

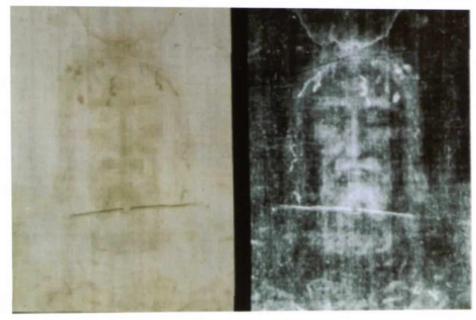


Figura 1. La sábana Santa de Turin./ The Shroud of Turin.

ello que la seguridad debe ser un aspecto esencial para asegurar la admisión en la Corte de la evidencia aportada por el polen forense.

En el campo forense, la palinología sirve para generar información útil sobre las circunstancias en las que ocurrió un homicidio; por ejemplo, cuánto tiempo lleva un cadáver en un lugar dado, si el cuerpo de la víctima fue transportado desde otro lugar y depositado intencionalmente en un escenario distinto y cuál es la relación entre un lugar u objeto determinado y el sospechoso.

La gran aplicación que tiene la palinología en la investigación criminalística se debe a que el polen y otros tipos de esporas producidos por las plantas están presentes en casi cualquier lugar y durante cualquier época del año. Al ser transportadas por animales (mayormente insectos) y por el viento, estas diminutas partículas vegetales alcanzan casi cualquier objeto, al que se adhieren y en el que permanecen inalteradas por muchos años. En el ser humano, el polen es frecuentemente encontrado en el pelo, la piel, la ropa y los zapatos.

En muchos casos muy poco polvo, barro u otros restos están disponibles para la colección y análisis en una investigación. En ese caso, el palinólogo se enfrenta a no disponer de muestra suficiente para tratar una serie de técnicas de extracción y determinar cuál podría ser mejor para analizar. Además, no se podrá realizar una segunda prueba, a modo de contraprueba.

En Argentina durante los últimos años la División Química Legal perteneciente a la Policía de la Provincia de Buenos Aires, se ha preocupado por ampliar las herramientas de soporte y técnicas de estudio para Jueces, Fiscales y demás autoridades competentes colocando a su disposición el análisis de elementos de estudio no comunes en nuestro medio, como es la Palinología Forense, que es muy

útil en la orientación de diferentes delitos, y hoy en día esta es boga.

Los objetivos de esta contribución son divulgar las actividades de la palinología forense en distintos hechos delictivos y poner en conocimiento las metodologías para el levantamiento y tratamiento de las muestras palinológicas.

ANTECEDENTES

Las distintas disciplinas que conforman los estudios botánicos fueron apareciendo paulatinamente, comenzando por la morfología vegetal, taxonomía, fisiología vegetal, anatomía, y la sistemática. Para el siglo XIX la botánica se había diversificado en numerosas disciplinas, cada vez más específicas. Pero es sólo en tiempos más modernos que una nueva disciplina de la botánica contemporánea surge como herramienta de apoyo a la investigación criminal, la palinología forense. Jafet M. Nassar (2005).

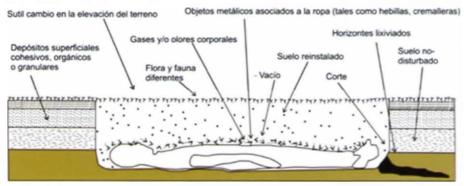
Los antecedentes incluyen el uso y análisis de palinomorfos en casos de falsificación, violación, homicidios, genocidio, terrorismo, agresión, robo, incendios provocados, atropello con fuga e importación ilegal; así como en acciones civiles. La Palinología puede ser empleada para relacionar un sospechoso con la escena del crimen, demostrar o refutar coartadas, disminuir el listado de los sospechosos, determinar el recorrido de drogas ilícitas, determina el destino post- morten de una víctima

(Martínez-Sánchez et al., 2008).

Mucha gente piensa que la palinología forense es una disciplina nueva, pero nada más lejos de la realidad. Los análisis palinológicos primeramente fueron aceptados en los tribunales europeos de justicia, naciones como Nueva Zelanda que es líder mundial en el desarrollo de la Palinología Forense. El primer caso bien documentado de uso de la palinología para resolver un crimen ocurrió en Austria en 1959. Gracias a muestras de polen de especies de plantas vivientes y extintas encontradas en el barro adherido a los zapatos de un sospechoso de asesinato, se logró inculpar al mismo y ubicar el lugar exacto donde éste enterró a su víctima en las orillas del río Danubio.

En ese caso, gracias a rastros de polen encontrados en la escena del crimen y en el coche, se pudo probar que el vehículo había estado involucrado en el crimen, lo que aseguró una sentencia (Erdtman 1969). Otro caso polémico en el que se ha utilizado el polen es el estudio de la Sábana Santa de Turín (Figura 1). Además del amplio espectro de pruebas que se le realizaron a la Sábana, un criminólogo de Zurich, llegó a identificar 58 tipos de polen diferentes sobre la Sábana. Geográficamente, estos tipos polínicos eran oriundos de áreas tales como el Mar Muerto y el Negro; la estepa de Anatolia, centro y oeste de Turquía; el entorno de Constantinopla y Europa occidental.

Algunos de los casos crimina-



Un modelo geológico conceptual idealizado de un homicidio de poca profundidad. La geologia y los horizontes del suelo pueden cambiar después del entierro de un cuerpo, donde interactúan diversos factores geológicos.

les más notorios del Reino Unido. fue la muerte de las estudiantes de Soham, en Cambridgeshire, Holly Wells y Jessica Chapman. En otro, la policía de Hertfordshire, en Inglaterra, encontró un cuerpo parcialmente quemado y abandonado en una cuneta. Durante la investigación, las autoridades querían establecer si un determinado coche había estado en ese lugar. Para ello contactaron con los jardines botánicos de Kew Gardens, en Londres, cuyos responsables los pusieron en contacto con una experta en botánica y ecología. En 1970, los sospechosos del secuestro y asesinato de un granjero en el condado de Macoupin, Illinois, EE.UU. fueron encontrados culpables en parte gracias a muestras de polen de maíz detectadas en sus ropas, las cuales coincidieron con la ubicación del auto donde fue abandonada la víctima, en las inmediaciones de una plantación de maiz.

El estudio del polen y las esporas también nos puede dar indicios útiles para resolver otros problemas de orden legal, tales como el origen y rutas de transporte de drogas como la marihuana y la cocaína las que se encuentran sujetas a estrictas regulaciones internacionales de comercialización, la autenticidad de una obra de arte y el origen de fabricación de un objeto de valor, entre otros muchos ejemplos.

MATERIALES Y MÉTODOS.

En el lugar del hecho se realiza como primer etapa el reconocimiento del lugar, la búsqueda de evidencias superficiales y el desarrollo de la exploración del subsuelo a través de distintas técnicas de muestreo. En esta etapa de exploración del suelo, los palinólogos realizan el relevamiento de campo con los datos obtenidos de los antecedentes previos.

La toma de muestras palinoló-

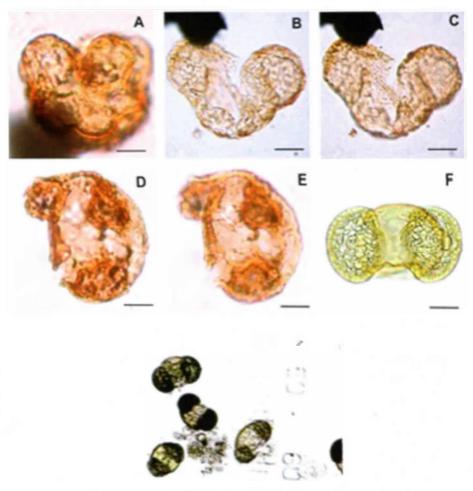


Figura 3. Polen de Pinus spp.

gicas es un problema complejo debido a la variabilidad que existe en los suelos; lo cual dificulta establecer un método totalmente satisfactorio para todos los casos en la toma de muestras. Asimismo, los detalles de los procedimientos deben quedar determinados en función del propósito con el que se toma la muestra.

Para realizar el muestro con fines forenses generalmente se trabaja con la parte más superficial del suelo (O a 2 cm), que es la muestra que puede quedar adherida a la ropa, zapatos o vehículo de la víctima en un hecho, pero en algunos casos cuando se presenta abundante vegetación sobre el suelo, la toma de la muestra debe llegar a los 4 cm de profundidad (Figura 2). Generalmente, bajo el microscopio, se cuentan un total de al menos 300-400 palinomorfos por muestra, y se vuelca el conteo a las tablas porcentuales o diagramas gráficos. Los tipos y cantidades de granos de polen por muestra se comparan entre distintas muestras recolectadas del lugar del crimen y alrededores. En esta etapa, prevalecen los análisis estadísticos que se llevan a cabo para evaluar los datos obtenidos del muestreo y conocimiento del lugar donde ocurrió un crimen.

Cada muestra se recolecta directamente de la escena del crimen, y sí ésta es muy amplia, se hace un muestreo al azar estratificado o selectivo en un área circular de 5 metros de radio para observar variaciones de especies de plantas locales. Posteriormente las muestras colectadas son selladas en bolsas plásticas o cápsulas de Petri debidamente identificadas.

Los palinomorfos tienen el potencial de ofrecer una excelente evidencia de rastro. Son muy pequeños, transferidos fácilmente entre los objetos, pueden persistir en éstos durante un período prolongado de tiempo, y pueden ser recuperados e identificados. Por lo tanto, cumplen los requisitos para ser transferidos con éxito y detectar rastros de evidencia.

El método que se presenta a continuación describe los procedimientos para realizar el análisis forense de muestras palinológicas y hacer cotejos o determinar la coincidencia entre muestras sometidas al estudio y que ello ayude a vincular a un sospechoso con su víctima.

El método básico usado para la separación de partículas orgánicas de las inorgánicas en las muestras tomadas es el de agregar cloruro de zinc, una vez habiendo tamizado la muestra a través de una serie de diferentes tamaño de mallas, decreciendo desde el tope hacia el fondo (Murray, 2004). La fracción de muestra que queda retenida en el tamiz de 0,053 mm es tratada con peróxido de hidrógeno (H2O2) para remover la materia orgánica, en la cual aparecerán los palinomorfos (Soriano Soto et al., 2004).

Luego, se procede a separar los óxidos utilizando NaOH al 50% en caliente, y se realizan varios lavados con agua destilada para limpiar la muestra. Se agrega ácido clorhídrico normal (HCl) en caliente y se deja en ebullición durante unos 5 minutos, y se añade 1 ml de cloruro amónico para flocular.

Posteriormente, se pasa a tubos de centrífuga de 10 ml, se lava con cloruro de sodio (NaCl) al 5%. Se lava la muestra con alcohol y luego con acetona. Por último, se trata la parte orgánica de la muestra con fucsina para resaltar las características más relevantes, para finalmente montar la muestra en un portaobjetos utilizando gelatina de glicerina en preparados palinológicos definitivos (Pérez, 1965).

Mediante el uso del microscopio óptico común se identifican y cuantifican las especies de polen y esporas que están presentes en las muestras recolectadas, con el fin de identificar taxones entre éstas.

DETERIORO DEL POLEN.

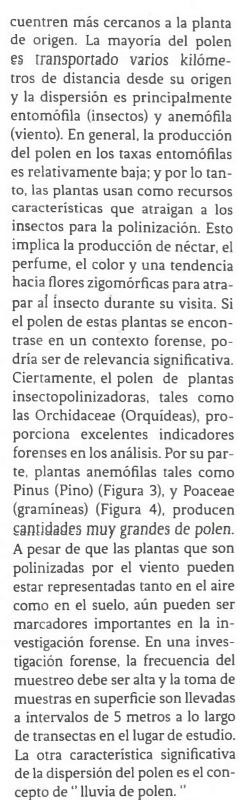
En Palinología Forense, la preservación del polen es un factor importante que debe ser tomado en cuenta. Sin embargo, no todas las especies pueden estar bien preservadas en la escena del crimen. Los palinólogos forenses necesitan considerar cuántos y qué tipos de polen se pueden perder debido a la inmunidad diferencial de cada especie del polen. Por su parte, se ha tratado de entender los mecanismos que están vinculados con el deterioro del polen, y los componentes que determinan la conservación del polen que aún no están claros. La composición química de la exina, esporopolenina. parece ser un factor primario que influye directamente en el potencial de conservación del polen. Sin embargo, la esporopolenina es muy sensible a la oxidación en exposición al medio ambiente. La morfología y la ornamentación de la pared externa son además, factores que impactan sobre la resistencia del polen. Un factor claramente identificado como agente destructivo en el polen es la hidratación y deshidratación en forma reiterada del suelo. Los cambios repetidos de volumen debilita los granos de polen a través del tiempo y los destruye. El estado de preservación del polen nos da una idea de cómo ha llegado a una escena del crimen específica. El deterioro del polen puede verse afectado además por microorganismos del suelo, como infección fúngica y por presencia de bacterias. Si el polen en la escena de un crimen se deteriora rápidamente, la vegetación puede no estar representada por los taxones exclusivos del lugar del hecho. Cuando la actividad microbiana se inhibe (por ejemplo, por el bajo potencial hídrico (PF), bajo potencial redox (Eh), v los extremos de valores de pH), los palinomorfos pueden persistir durante miles de años y fosilizarse. El polen y las esporas son preservados en las rocas sedimentarias por excelencia, y paleosuelos. Si los palinomorfos están presentes en el lugar del hecho, puede deducirse la sistemática y origen de la vegetación que prevalece en el ambiente. Si las plantas del medio son en su mayoría ricas en nutrientes y actividad fotosintética, y se encuentran en suelos bien dre nados, la posibilidad de una buena conservación del polen es mucho menor que si las plantas indicaran un medio ácido, conectado al agua y condiciones anaeróbicas.

El polen en la escena del crimen puede ser diferente en su composición del que originalmente fue tomado del lugar del hecho, cuando pasa un lapso de tiempo determinado entre el crimen y la recolección de la muestra. Es importante destacar que la posibilidad de encontrar un taxón palinológico en cualquier muestra no significa necesariamente que esté presente en el ambiente; pero si se encuentra en más de una muestra (y no existe riesgo de contaminación durante la preparación en laboratorio), es un componente de la asociación en el lugar del hecho. Estas muestras sólo representan una parte muy pequeña de cualquier escena del crimen, por lo que cada trayec toria de aproximación al lugar del hecho debe ser muestreada para su comparación con los objetos expuestos. A menudo es necesario recolectar gran cantidad de muestras, especialmente cuando hay poco conocimiento sobre los movimientos del delincuente en un hecho (Wiltshire, 2006).

PRODUCCIÓN Y DISPERSIÓN.

El número de esporas y granos de polen producidos por las plantas y su forma de dispersión, afectara la frecuencia con la cual se en-





Para las plantas polinizadas por

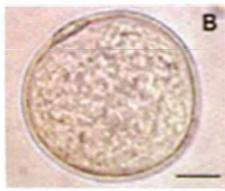
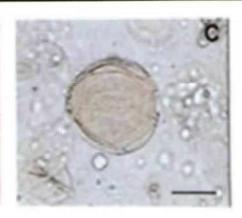


Figura 4. Polen de Poaceae

animales, los granos de polen son en su mayoría producidos y depositados en cantidades relativamente bajas en el área inmediatamente por debajo de la planta. Mientras que para las plantas polinizadas por el viento, que tienen mayor producción de polen, éste se deposita a diferentes distancias de la planta que lo originó, dependiendo de la altura de la cual se libera, la velocidad y dirección del viento. tamaño, masa, y la forma aerodinámica de los granos de polen. Se investigó que el 95% del polen dispersado por el viento cae dentro del radio de 2 km de la planta de origen. Por lo tanto, el hallazgo de "lluvia de polen" en una muestra de suelo, no indica necesariamente la presencia inmediata de un taxón particular de la planta que lo originó. Sin embargo, el polen disperso por animales (insectos) indicaría la presencia de una especie específica en el lugar donde ocurrió un crimen. Más de la mitad de la plantas con flores (angiospermas) utilizan la polinización animal, y en un estudio forense garantiza la identificación de taxones específicos.

El palinólogo forense no puede confiar en los modelos teóricos para la interpretación de sus análisis. Los datos deben ser obtenidos, de la forma más amplia posible, en la escena del crimen y ser volcados en un perfil palinológico. La persistencia de los granos de polen y esporas en la superficie del suelo y en sedimentos, depende de las condiciones ambientales y la rigidez de la pared externa de la espora o polen, formada



por esporopolenina (exina).

CONSIDERACIONES FINALES.

La experiencia adquirida y resultados obtenidos por la participación en numerosos casos, permiten plantear que desde una Ciencia Forense como la Palinología, se puede prestar una importante colaboración con la justicia. Es indudable que en otras áreas del conocimiento criminalístico forense, existen profesionales especializados que suman a la inventigación datos puntuales y hacen un mayor aporte al esclarecimiento de un hecho.

La presencia de grandes cantidades de polen provenientes de una planta en particular, hallados en la ropa, apunta fuertemente a que la especie del polen esté en contacto con la planta madre. Esta información puede ser utilizada para ayudar a identificar la ubicación de la escena del crimen, la ubicación de la planta identificada, o permitir la reconstrucción de un delto o movimiento de ciertas personas, mediante la comprensión de la interacción con ciertas plantas.

En la investigación criminal, la importancia de la acumulación del polen en diferentes objetos dependerá del tiempo que se conserva el polen. En la realidad, los automóviles se limpian a menudo asiduamente (en particular si un delincuente es "consciente"), y no hay duda de que la tarea de eliminar los palinomorfos del automóvil es inmediata. En la experiencia de la autora, los filtros de aire de los ve-

hículos han sido de poca utilidad en los casos tratados en la División Química Legal de La Plata, debido a la pequeña escala del mallado de los filtros (Povilauskas, L. 2015).

Numerosos casos penales han demostrado que el polen y las esporas pueden permanecer dentro de la trama de la tela seca en diferentes prendas de las víctimas, por muchos años. La abundancia de los palinomorfos recuperados de la ropa de las víctimas, varía de acuerdo con las posibilidades de retención de la tela, y la asiduidad de limpieza después de un crimen. A lo largo de los análisis en diferentes casos, se ha demostrado que el algodón es el material que menos retiene el material palinológico, mientras que la lana y una amplia gama de telas sintéticas son mucho mejores. El nylon y la lana sintética son particularmente buenas en retener el polen por períodos largos.

Por su parte, la asociación esporopolínica obtenida de una muestra a partir de la suela de un zapato (o cualquier otro objeto) nunca se ha encontrado en ninguna escena del crimen perfecto. Por su propia naturaleza, el calzado puede retener palinomorfos de más de un lugar. Sin embargo, la experiencia de los palinólogos ha demostrado que a menos que el delincuente camine sobre el suelo, la vegetación, o los desechos orgánicos, los zapatos tienden a recoger pequeñas cantidades de polen durante el recorrido en la escena del crimen. Por lo tanto, el calzado es un recurso muy interesante y valioso en palinología forense que merece mayor consideración y atención que otros objetos (Biblioteca.Edu.ar).

Una realidad a tomar en cuenta es que la falta de palinólogos de tiempo completo en los laboratorios forenses es un factor que contribuye a la falta de desarrollo de los métodos de interpretación. Los palinólogos que son llamados a hacer un trabajo forense son a menudo empleados como investigadores de otros aspectos de la palinología. Por lo tanto, aún no tienen el compromiso del trabajo de tiempo completo ni recursos

para aplicar a tareas forenses, lo que permitiría el desarrollo de su propia base de datos de conocimientos.

Es importante lograr la concientización de las autoridades que requieren la investigación del hecho que la optimización del tiempo y del esfuerzo dedicado a la búsqueda se traduce en aumentar la posibilidad de hallazgo. Uno de los cambios para el futuro de la Palinología Forense, es desarrollar una manera de evaluación de las muestras, y un factor de complicación es la posibilidad de contaminación de las muestras a través de las asociaciones esporopolínicas mezcladas de diferentes fuentes de origen.

Se espera que el contenido de esta contribución sea de utilidad a palinólogos, antropólogos, arqueólogos, botánicos y profesionales de Argentina y otros países, que trabajen en la búsqueda de indicios, objetos y elementos vinculados a un crimen, en casos torenses en los que es necesario hacer un aporte a partir de la Palinología Forense.

AGRADECIMIENTOS.

La autora agradece la posibilidad de publicación de este manuscrito a la Ingeniera Química Cristina Raverta, Comisario Mayor, y a la Lic. Liliana Sivak, Comisario General, Superintendenta de Policía Científica La Plata, y por el apoyo brindado en el uso de los Microscopios Óptico y MEB para el análisis de este trabajo.

REFERENCIAS

- · Biblioteca Educ.ar. Marta A. Morbelli Aportes de la palinología a la actividad forense: http://www.puentes.gov.ar/educar/superior/biblioteca_digital/
- · Erdtman, G., 1969. Handbook of Palynology An Introduction to the Study of Polllen Grains and Spores. Munksgaard, Copenhagen, 486 pp.
- · Jafet M. Nassar 2005. La botánica como herramienta de la investigación criminal. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela. Disponible en la Wild Word Web.
- · La Sábana Santa de Turín http://www.shroudstory.com/faqpollen.htm http://www.shroudstory.com/pollen.htm y http://es.wikipedia.org/wiki/Sudario_de_Tur%C3%ADn
- · Martínez-Sánchez, M., Fernández, S. y Carrión, J. 2008. Palinología y escenario forense. Un caso de estudio del sureste de España. Anales de Biología 30: 43-54.
 - Murray, R. C. 2004. Evidence from the Earth: Forensic Geology and Criminal Investigation, 226 pag. Montana.
 - · Pérez, M. J. 1965. Análisis Mineralógico de arenas. Patronato Alonso de Herrera. Madrid.
- · Povilauskas, L., 2015. Geología Forense: Técnicas aplicadas en muestras sedimentológicas, en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Mendoza Forense (1): 18-23.
 - · Soriano Soto, María Desamparados et al., 2004. Prácticas de Edafología y Climatología. Valencia, España: Alfaomega, 140 p.
- Wiltshire, P. E.J., 2006. Consideration of some taphonomic variables of relevance to forensic palynological investigation in the United Kingdom. Forensic Science International 163: 173–182.